Rev. CO013000

極性有機溶媒系サイズ排除クロマトグラフィー用カラム

TSKgel ® SuperAWシリーズ

取扱説明書

東ソー株式会社

TOSOH

ご使用前に

- 本製品を使用する前に，必ずこの取扱説明書をよく読んで理解してください．
- この取扱説明書は，いつも手元においてご使用ください．
- 製品本来の使用方法および取扱説明書で指定した使用方法を守ってください．
- 本書の安全に関する指示に対しては，指示内容を理解の上，必ず従ってください．

以上の指示を必ず厳守してください．
指示に従わないと，けがや事故の恐れがあります．

【取扱説明書について】

- 取扱説明書の内容は，製品の性能・機能の向上により将来予告なしに変更することがあります．
- 取扱説明書の全部または一部を無断で転載，複製することは禁止しています．
- 取扱説明書を紛失したときは，弊社営業担当者までお問い合わせください．
- 取扱説明書の内容に関しては万全を期していますが，万一不審な点や誤り，記載漏れに気づいたときは，お手数ですが巻末の連絡先までご連絡ください．

安全上のご注意

- ご使用前に，この「安全上のご注意」をよくお読みのうえ，正しくお使いください．
- この項目は，いずれも安全に関する内容ですので，必ず守ってください．
- 「警告」「注意」の意味は次のようになっています．

⚠ 警告	取扱いを誤った場合，使用者が死亡または重傷を負う可能性が想定されるもの．
⚠ 注意	取扱いを誤った場合，使用者が傷害を負う可能性が想定されるものまたは物的損害の発生が想定されるもの．

ご使用時

⚠ 警告

●火気厳禁

- 引火性のある溶媒を使用する場合，火気の使用は厳禁です．火災，爆発の原因になります．

⚠ 注意

●換気に注意を

- 引火性，毒性のある溶媒を使用する場合，十分換気をしないと火災，爆発，中毒の原因になります．

●液漏れに注意を

- 溶媒等の液漏れは，感電，中毒，薬傷，火災，腐食などの原因になります．液漏れの場合は，適切な保護具を着用し，液を取り除いてください．

⚠ 注意

●保護具の着用を

- 有機溶媒や酸などの溶離液を取扱う場合は，保護メガネ，手袋などの保護具をご使用ください．薬傷を負う恐れがあります．

●取扱いに注意を

- 取扱いが不適切であると，カラムの性能を損なうことがあります．取扱いには十分注意してください．

●適切な使用方法を

- 本カラムは分離，精製等に用いるもので，それ以外の目的には使用しないでください．

●圧力に注意を

- 急激な圧力上昇は，カラムの性能を損なう原因になります．又，カラム材質により破裂，飛散等の可能性があります．規定以上の圧力にならないようにご注意ください．適切な保護具を着用し，十分注意して作業をおこなってください．

●分離精製物の取扱いに注意を

- 得られた分離精製物または精製溶液を製品あるいは中間体として使用する場合は，十分にその安全性の確認をおこなってご使用ください．

●処分には適切な処理を

- 廃棄する場合は，産業廃棄物として適切な処理をおこなってください．

取扱い上のご注意（充てん剤に関する注意）

応急処置	吸入した場合	• 空気の新鮮な場所に移動し，うがいをおこなう．
	皮膚に付着した場合	• 水等で洗い流す．
	眼に入った場合	• 直ちに清浄な水で15 分以上洗眼する．その際は瞼を開き水が全面にゆきわたるようにおこなう． • 速やかに医師の手当を受ける．
	飲み込んだ場合	• 口腔を水洗し，医師の手当てを受ける．
	全般	• 特になし．
取扱いおよび保管上の注意	火気等の注意	• 火気の使用を禁じ火花の発生を防止するための防爆工具の使用および接地等をおこなう．
	換気	• 換気設備などで換気する．
	取扱い時の保護具と身体の洗浄	• 取扱いの際はゴム製手袋，保護メガネおよび防じんマスクを着用する． • 身体に付着した場合には，水で洗い流す．
廃棄上の注意	処分方法	• 廃棄する場合は焼却設備等で少量ずつ焼却処分をおこなう．
	一般的な留意事項等	• 処分作業は可燃物の取扱いおよび保管上の注意事項に留意しておこなう．

□充てん剤；可燃性充てん剤（ビニル共重合物）
□出荷溶媒；イオン交換水（0 ℃付近で凍結の可能性がありますので保存温度に注意してください）

目　次

1．はじめに……1
2．ご使用の前に……1
3．カラム各部の名称……1
4．装置へのセットと注意……2
5．カラムの保存方法……4
6．溶媒の選択……5
7．使用流速……6
8．使用温度……7
9．試料溶液の調製……7
10．理論段数，非対称係数の測定……8
11．ガードカラム……9
12．トラブル発生時の処置法……10
13．品質規格および保証……12
14．おわりに……13

2008年1月改訂
2003年9月改訂

1. はじめに

この度は，東ソーTSK-GEL® をお買いあげありがとうございました．

TSK-GEL® SuperAWシリーズは，微粒子化された親水性合成高分子を充てん剤に用い，水溶液系から各種極性有機溶媒（水／有機溶媒混合）系で測定可能な耐溶媒交換型の高性能・セミミクロSEC充てんカラムです．

この高性能カラムの性能を十分に発揮させて，効果的にご使用いただくために，ご使用の前にこの取扱説明書をよくお読みのうえ，正しくご使用くださいますようお願いいたします．

2．ご使用の前に

まず，梱包状態およびカラムの外観に異常はないか確かめてください．

図1　梱 包 外 観 図

つぎに，カラムと別に次の品物が入っていますので，ご確認ください．

・取扱説明書…… 1 通
・検査票（INSPECTION DATA）…… 1 通

3．カラム各部の名称

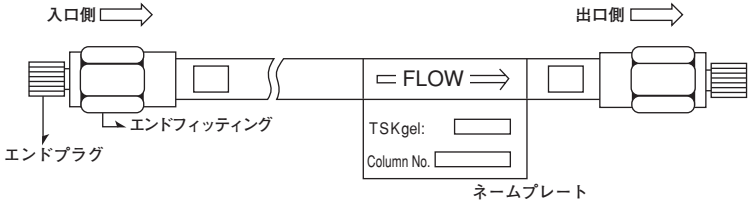

図2　カラムの見取図

4．装置へのセットと注意

4-1　カラム部品の接続方式

すべてネジ込み方式で，インチ規格です．

4-2　カラムの通液方向

図2に示した矢印の方向，すなわちネームプレートのFLOWの矢印のとおりに使用してください．逆方向に長時間液を流すと，カラムの性能が低下します．

4-3　気泡の混入防止

カラムを装置にセットする際，また取りはずす際に，カラム内に空気を入れないよう十分注意を払い，必ず装置の全配管系の気泡を除いた後，カラムを装置にセットしてください．カラム内に気泡を入れますとチャンネリング等により性能が低下します．

4-4　カラムの装置順序

サンプルカラムとリファレンスカラムの両カラム系を装置にセットする場合，必ずリファレンスカラム系を先に取りつけてください．

4-5　カラムの接続

4-5-1　エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てくる場合

カラムは装置の全配管系の気泡を除いたことを確認して接続します．カラムの入口側のエンドプラグをはずしたとき，エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てきた場合，先に述べたように気泡をカラムに入れないよう注意しながら装置に接続してください．

4-5-2　エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てこない場合

カラム入口側のエンドフィッティングより溶媒がにじみ出てこない場合には，カラム出口側エンドフィッティングと装置を接続し送液ポンプにより溶媒を送り，逆流しによって入口側エンドフィッティング付近の気泡を溶媒で押し出してください．（この際，急激な加圧，あるいは送液は，カラムの性能が低下しますので，溶媒は**表4**の適正流速の下限の1／2以下の流速で送り込んでください．）

4-5-3　気泡が出ないことを確認したら

カラム入口側エンドフィッティングより気泡が出ないこと，および溶媒がにじみ出ることを確認した後，カラムを正常な通液方向にして，入口側エンドフィッティ

ングと装置を接続してください．

4-6　複数のカラムをセットする場合

上記で接続したカラムの出口側エンドフィッティングを装置の配管系のカラム接続口と考えて，次のカラムを上記要領でつぎつぎと接続してください（カラムとカラムの接続は，1／16インチリードパイプを用いますが，デッドボリュームを少なくするため，リードパイプの長さを短くしてください．また，リードパイプは，エンドフィッティングいっぱいに差し込んでおいた状態でフェラルを固定してください．リードパイプとエンドフィッティングの間にすき間があると，溶媒の流れが乱れ，分離能が低下します．）

4-7　一般的なカラムの接続順序

オーバーロードしやすい高分子側を先に分離，カラム内濃度を減少させる目的でポアサイズの大きい順におこないます．最後にカラムの出口は，装置の検出器の入口に接続してください．

4-8　測定開始前

カラムのセット終了後，測定を開始しますが，その際先にも述べましたように急激な加圧，送液は，カラムの性能が低下しますので避けてください．とくに急激な圧力の立上がりを示す送液ポンプを使用される場合注意してください．

4-9　脈流対策

このカラムは，脈流に対して非常に影響を受けやすいので，十分に注意してください．送液ポンプは，脈動のないものを選んでください．もし脈動のあるポンプをご使用の場合は，パルスダンパ（アキュムレータ）をポンプ吐出側に接続して，脈流を消去してください．

4-10　測定終了後

4-10-1　測定温度が室温より高い場合

測定終了時，すぐにポンプを止めないで，カラムの温度が室温に下がるまで送液を続けてください．温度が高い状態のままポンプを止めると，溶媒の収縮によりカラム内に気泡を引き込むことがあります．

4-10-2　測定が終了し，翌日も同一カラム系で測定される場合

全配管系の漏れがなければ，装置内にセットしたままで，翌日使用されてもかまいません．ただし，次の使用が3日以上になる場合には，4-10-4項に示す操作をお

こない，カラムを保存してください．

4-10-3　溶媒として塩水溶液を使用していた場合

全配管系を蒸留水またはイオン交換水で洗浄してください．洗浄時は**表 1** に示す流速以下でおこなってください．また洗浄に要する液量は，カラムの内容積分と配管系を置換するために必要な溶媒量以上としてください．

表 1　洗浄時の流速

カ　ラ　ム	カラムサイズ　内径(mm)×長さ(cm)	流　　速
SuperAWシリーズ	6.0×15	0.2 mL/min

4-10-4　長期保存の場合（3 日以上）

再使用までの期間が比較的長い場合には，イオン交換水に置換後，カラムを装置からはずし，両端をカラム納入時と同じように，エンドプラグを使って封をしてください．

5．カラムの保存方法

5-1　保存方法

4-10項の作業をおこなった上で保存してください．

5-2　保存時の温度

カラムは室温（できるだけ25 ℃）にて温度差の小さい場所（恒温室）に保存してください．

カラムを0 ℃以下に放置した場合には，凍結の可能性があり，カラムの劣化の原因となりますので，これは絶対に避けてください．

5-3　直射日光

避けてください．

5-4　腐食性ガス

発生しない安全な場所に保存してください．

6．溶媒の選択

6-1　使用溶媒への置換

SuperAWシリーズのカラムの出荷時の溶媒は，イオン交換水です．使用溶媒に置換してご使用ください．

溶媒の置換は，**表 3** に示す流速でおこなってください．

また頻繁な溶媒交換は，カラムの性能低下を早めますので，できるだけ同一溶媒をご使用ください．

6-2　有機溶媒

SuperAWシリーズは，**表 2** に示す各種の極性有機溶媒（水／有機溶媒混合）に交換可能です．また，溶媒互換性もあります．

表 3 には，イオン交換水から交換可能な各種極性有機溶媒に交換する時の流速を示しました．なお，各種極性有機溶媒に交換する時は，以下の点について注意してください．

a　溶媒交換時のカラム圧力が表 4 に示す最大圧力損失以上になる場合は，交換流速を下げるか，温度を高める等の操作をおこない，最大圧力損失以下での溶媒交換をおこなってください．

s　新しい溶媒に100 %交換した後も，低流速でカラム容積の 2 ～ 3 倍は通液をおこなってください．

d　混和しない溶媒への交換は，中間溶媒としてエタノールを介してください．

f　カラム内への気泡の混入は，絶対に避けてください．

6-3　脱気操作

溶媒の置換時（とくに有機溶媒添加系への置換時）および測定時に溶媒から気泡を発生し，カラム内に気泡を混入することがあります．この気泡の発生を防ぐために，溶離液は十分に脱気をおこなってください．

表 2　TSK-GEL® SuperAWシリーズの交換可能な有機溶媒

使用（交換）可能な有機溶媒
メタノール（MeOH），エタノール（EtOH），テトラヒドロフラン（THF），アセトニトリル（CH_3CN），ジメチルホルムアミド（DMF），ジメチルスルホキシド（DMSO），ヘキサフルオロイソプロパノール（HFIP），水／MeOH，水／DMSO，水／CH_3CN，水／THF

表 3　TSK-GEL® SuperAWシリーズのイオン交換水から各種有機溶媒への交換流速

有機溶媒	推奨溶媒交換流速(mL/min)	粘度(CP)　温度(℃)
MeOH	0.3	0.54　30
EtOH	0.2	1.06　25
THF	0.3	0.55　20
CH_3CN	0.3	0.33　30
DMF	0.2	0.80　25
DMSO	0.1	2.00　25
HFIP	0.1	5.70　20

6-4　使用可能pH範囲

室温（25 ℃）測定における移動相のpHは2.0～12.0と比較的広い範囲で使用可能です．高温（50 ℃～80 ℃）の場合は，pH6.5 ～7.5 の範囲で使用してください．水溶液の塩濃度は0.5 mol/L以下が一般的です．塩類として塩化ナトリウム，塩化カリウムなどハロゲンイオンを含む塩は極力避けてください．

7．使用流速

SuperAWシリーズの使用流速を**表 4** に示しました．通常使用される水溶液での測定で適正流速，圧力損失は各グレードにより異なります．**表 4** に示す最大流速以上およびカラム一本あたりの最大圧力損失以上での使用は，絶対に避けてください．

表 4　TSK-GEL® SuperAWシリーズの使用流速および最大圧力損失

品　　名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)	適正流速 (mL/min)	最大流速 (mL/min)	最大圧力損失 〈カラム1本あたり〉 (MPa)
TSKgel SuperAW2500 TSKgel SuperAW3000	6.0×15	0.3～0.6	0.8	6.0
TSKgel SuperAW4000				4.0
TSKgel SuperAW5000				3.0
TSKgel SuperAW6000 TSKgel SuperAWM-H				2.0

8．使用温度

8-1　使用温度範囲

すべてのSuperAWシリーズカラムは，10 ℃～80 ℃でご使用ください．

8-2　加温状態で測定される場合

溶媒はよく脱気してご使用ください．加温状態での測定が終了したら，カラムの保護のため4-10-1項の注意を必ず守ってください．

8-3　加温状態での測定の利点

主として次のような利点があります．

（1）溶媒および試料の粘度が高いときに，加温により粘度をさげることができる．

（2）室温使用のときより理論段数が向上し分離能が高まる．

8-4　室温以下の低温で測定する場合

8-3項で述べた加温状態での利点と反対の欠点が生じます．また，溶媒および試料の粘度が高まるため，流速を室温（25 ℃）の場合よりも低くすることが必要です．

9．試料溶液の調製

9-1　試料溶液中に不溶分，ゲル分がある場合

遠心分離やマイクロポアフィルタ（0.45 μmなど）によるろ過精製を必ずおこなってください．肉眼では見ることはできなくとも，不溶分が存在する可能性があります．

9-2　試料溶液の組成

試料液の塩濃度，pH，有機溶媒の添加量を溶離液にあわせてください．

また，溶離液と混合することによって，不溶性物質を生成するような試料は，注入できませんので注意してください．

10. 理論段数，非対称係数の測定

カラムの理論段数，非対称係数および測定条件は，検査票（INSPECTION DATA）記載のとおりです．

10-1　理論段数計算法

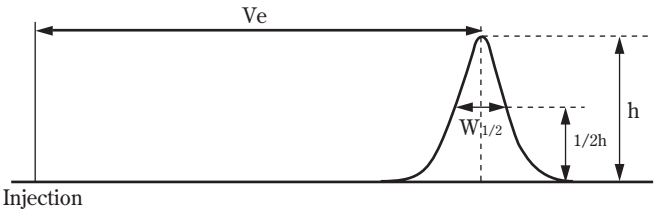

図 3　TSK-GEL　理論段数計算法

カラムの理論段数は，半値幅法により計算をおこなっており，カラム当りの段数で表示してあります．

$N = 5.54 (Ve/W_{1/2})^2$

Ve　：溶出時間　　(min)

$W_{1/2}$　：ピーク半値幅　　(min)

h　：ピーク高さ

N　：カラム当りの理論段数

10-2　非対称係数計算法

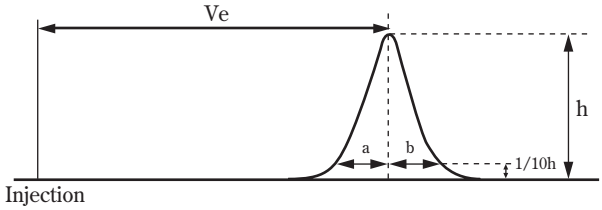

図 4　TSK-GEL　非対称係数計算法

カラムの非対称係数は，1／10h法により計算をおこなっています．

As＝b／a

As：非対称係数

なお，カラム検定は，デッドボリュームを小さくした当社HLC装置で測定しております．

デッドボリュームの大きい装置を使用した場合，あるいは注入量を多くした場合は，規格値よりも低い理論段数を示すことがありますので，注意してください．

11. ガードカラム

4～9項において，トラブル発生を防止するための基本的な注意について示しましたが，試料中に充てん剤に吸着する物質が存在する場合，それがカラムの入口側に吸着され，しだいに蓄積し，カラムの段数低下，性能変化の原因となります．このようなとき，分析カラムの入口側にあらかじめガードカラムをセットしておいた場合，ガードカラムを交換することで吸着物質により劣化した性能を元の状態に戻すことが可能となります．より確実にトラブル発生を防ぐためにガードカラムを是非，ご利用ください．

ただし，ガードカラムは，分析用カラムではありませんので，ガードカラムのセットにより分離能が向上することを目的としておりません．あくまでもトラブル防止対策としてご利用ください．SuperAWシリーズのガードカラムを**表5**に示します．

11-1　ガードカラムの設置効果

a　脈流，異常流速，圧力の増減による分析カラムのトップオフ防止．
s　吸着性物質のカットによる分析カラムの汚染防止．
d　不溶性物質のカットによる分析カラムの保護．

11-2　ガードカラムの交換

ガードカラムは，吸着容量に限界があり，寿命があります．本体カラムに汚染がおよぶ前に，早めに交換することが必要です．交換の頻度は，使用目的（分析か分取か），試料の性質（主成分の性質，不純物の性質や量など），試料負荷量，溶離液，流速などの種々の要因に依存し，画一的に示すことはできません．

使用中におけるカラム系の圧力上昇は，ガードカラムのエンドフィッティングのつまりや，ゲルの汚染を反映しますので，ある程度の圧力上昇が認められたなら交換するのも一つの方法です．

一般的には，測定データに変化が認められるようになった場合は，ただちに取り替えてください．

表5　ガードカラム

品番	品　　名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)	カラム内溶媒	接続対象カラム
19321	TSKguardcolumn SuperAW-L	4.6×3.5	H_2O	SuperAW2500～4000
19322	TSKguardcolumn SuperAW-H			SuperAW5000，6000，AWM-H

12. トラブル発生時の処置法

使用中，もし下記のようなトラブルが発生した場合，以下の手順にしたがってチェックをし，適切な処置をおこなってください．処置が適切であれば，元通りに近い性能に回復することもありますが，カラムの寿命，吸着物質，気泡の混入，乾燥，凍結等が原因の場合には，元通りの性能は得られませんので，カラムの取扱いには十分な注意を払ってください．

12-1　カラムエンドフィッティングトラブル

試料を注入後，急激に流量が低下した場合，同一流量でカラム購入時より大きく圧損が増大した場合，あるいはエンドフィッティングのスウェジロックが破損した場合12-1-1～12-1-3項の処置や確認をおこなってください．

12-1-1　つまり物の押し出し

カラムを装置より取りはずし，出口側エンドフィッティングをポンプ側配管に接続し通常の流速で送液して，入口側エンドフィッティングにつまったものをカラム外に押し出してください．この操作でつまったものが取れない場合，あるいはエンドフィッティングが破損した場合は，12-1-2項の手順にしたがってエンドフィッティングの交換をおこなってください．

12-1-2　エンドフィッティングの交換

新しいエンドフィッティングを用意し，つまったエンドフィッティングをカラムより取りはずします．この際，ゲルが外部に漏れないよう細心の注意を払ってください．取りはずしたエンドフィッティングに残っているゲルを，新しいエンドフィッティングに移しカラムに取りつけます．

12-1-3　エンドフィッティングの交換後

交換が終わりましたら，4-5-2項を参考にして，新しいエンドフィッティング側の気泡を取り除いた後，理論段数を測定し，段数の低下が起こっていないか確認してください．

12-2　分離能が急激に低下した場合

カラム系の理論段数を測定してください．段数が正常であれば試料に原因があると思われますので，新しく試料を作り直してください．

もし理論段数が異常であれば，カラムの性能低下と考えられますので，まずカラム１本１本の理論段数を測定してください．その際，それぞれのカラムは気泡がはいらないように，エンドフィッティングにエンドプラグをしておいてください．性能低下のカラムが見つかりましたら下記の処置をおこなってください．

カラム系の分離能が急激に低下する原因としては，12-2-1～12-2-2項が考えられます．

12-2-1　エンドフィッティングにゴミ等がつまり，流路に乱れを生じる場合

12-1項を参考にして，エンドフィッティングの洗浄または交換後，理論段数を測定してください．

12-2-2　吸着物質が蓄積した場合

この場合は，12-3項を参考にしてください．

試料の吸着を避けるために，ガードカラムをセットされることをおすすめします．

12-3　使用中に試料が吸着して溶出しないか，または溶出がいちじるしく遅れる場合

長時間繰り返して測定しているうちに，溶出挙動がいちじるしく変化する場合がありますが，このような現象は，試料中の微量吸着成分が充てん剤表面に蓄積し表面状態が変化したために起こるものと考えられます．このような場合，性質の異なる溶媒で洗浄することにより分離能が回復することがあります．

吸着の代表例を示します．

吸着現象と洗浄法

(1) イオン性吸着（イオン性物質の除去）
　塩濃度を上げて適切なイオン強度にする．(0.5 mol/L以下)

(2) 疎水性吸着（疎水性吸着物質の除去）
　水溶性有機溶媒を用いる．

(3) 塩基性物質の吸着
　酸性水溶液（酢酸緩衝液）を用いる．

上記の方法をすべておこないますと，頻繁な溶媒交換となり，カラムの劣化の原因となります．試料をよくご検討のうえ，最も適した方法で洗浄をおこなってください．

13. 品質規格および保証

13-1 検査票（INSPECTION DATA）

検定条件，検定結果，検査票記載のとおりです．

このうち，理論段数はカラム当りの理論段数で，圧力は検定流速での圧力を表示してあります．

13-2 品質規格

TSK-GEL® SuperAWシリーズは，以下の規格で出荷されております．

表 6 TSK-GEL® SuperAWシリーズ

品番	品名	カラムサイズ (mmID×cm)	理論段数 (段/15 cm)	非対称係数	カラム内溶媒
19315	TSKgel SuperAW2500	6.0×15	16000	0.7～1.4	H_2O
19316	TSKgel SuperAW3000		16000		
19317	TSKgel SuperAW4000		10000		
19318	TSKgel SuperAW5000		10000		
19319	TSKgel SuperAW6000		7000		
19320	TSKgel SuperAWM-H		7000		
19321	TSKguardcolumn SuperAW-L	4.6×3.5	—	—	
19322	TSKguardcolumn SuperAW-H				

13-3 保証

(1) 現品到着後，検査票並びにこの取扱説明書に記載の条件で，カラムの理論段数および非対称係数をチェックしてください．当社の責任で規格値を外れている場合には良品と交換いたします．

(2) 輸送中の事故などで，カラムに破損が認められる場合には良品と交換いたします．

(3) 上記，品質不良につきましては，現品到着後，2週間以内にご連絡ください．

2週間を過ぎた場合は良品としてお受取りいただいたものとみなします.

(4) カラムの寿命については，保証の対象外といたします.

(5) 商品の仕様は，改良のため予告なく変更することがあります.

14. おわりに

本取扱説明書の内容に関して，ご不明な点あるいはご質問等がありましたら，巻末の連絡先にご連絡ください.

以下の名称は東ソー株式会社の登録商標です.
HLC, TSK-GEL, TSKgel, TSKgel SuperMultipore,
BioAssist, Enantio, PStQuick,
エンバイロパック/Enviropak, トヨパール/TOYOPEARL, ToyoScreen,
TOYOPEARL GigaCap, トヨパールメガキャップ/TOYOPEARL MegaCap,
トヨパールパック/TOYOPEARLPAK, TOYOPAK

東ソー株式会社　バイオサイエンス事業部

東京本社　営業部　☎(03)5427-5180　〒105-8623　東京都港区芝3-8-2
大阪支店　バイオサイエンスG　☎(06)6209-1948　〒541-0043　大阪市中央区高麗橋4-4-9
名古屋支店　バイオサイエンスG　☎(052)211-5730　〒460-0003　名古屋市中区錦1-17-13
カスタマーサポートセンター　☎(0120)17-1200　〒252-1123　神奈川県綾瀬市早川2743-1

Printed in Japan